Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 1, Spring 2023, p. 245-259

Effect of Spirulina and Brown Algae and Lead Levels on some Morphophysiological Characteristics of Ornamental Cabbage

A. Hooshmand[1], M. Aelaei[2*], M. Arghavani[3], F. Salehi[4]

Received: 05-04-2022 Revised: 11-06-2022 Accepted: 14-06-2022 Available Online: 18-06-2022	**How to cite this article:** Hooshmand, A, Aelaei, M., Arghavani, M., & Salehi, F. (2023). Effect of spirulina and brown algae and lead levels on some morphophysiological characteristics of ornamental cabbage. *Journal of Horticultural Science 37*(1): 245-259. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/jhs.2022.75809.1158

Introdaction

Heavy metals are one of the most important environmental contaminants, particularly in soil and water sources. Mining and metal mining activities are major factors in soil contamination and generally surface soil around mines contain high amounts of these metals. Lead (Pb) is one of the heavy metals and important pollutant in arid ecosystem. The use of plants to remove contaminated soil or phytoremediation is an economical method. Today, due to increasing the pollution of soil sources and resultant problems, identification of the resistant plant species against soil pollution is essential. Using lead-contaminated soils requires their decontamination and improvement. There are different methods to remove these pollutions, one of them is the use of phytoremediation to remove pollutants from water and soil or to reduce them. Among the plants that as an ornamental plant can have a covering role in the green space and also perform the work of phytoremediation is the ornamental cabbage plants (*Brassica oleracea L.*). In this regard, this study was conducted with the aim of investigating the effect of lead heavy metals and the use of brown algae (*Polycladia indica*) and spirulina (*Arthrospira platensis*) as biofertilizers on ornamental cabbage plants in the direction of plant treatment. In addition, due to the presence of polysaccharide compounds such as carrageenan and alginate in the cell wall, algae (seaweeds) have a higher ability to absorb many heavy metals.

Materials and Methods

The experiment was conducted as factorial based on a completely randomized design in 2020 at the research greenhouse of Zanjan University. The studied factors including lead from lead nitrate source $Pb(No_3)_2$ with three concentrations (0, 25 and 50 mg/kg) were applied to the potting soil in four replications in two stages with an interval of two weeks. The second factor was included no algae, brown algae (*Polycladia indica*) and spirulina (*Arthrospira platensis*), which occurred in four replications. The measured traits included morphological traits: number of leaves, leaf surface index. Wet and dry root weight, and physiological traits included total chlorophyll content, total leaf antioxidant, peroxidase enzyme, glycine betaine, malondialdehyde, and leaf lead and phosphorus content. Data analysis was performed using SAS software and means were compared by LSD method.

Results

The results of the variance analysis showed that different levels of lead and the application of algae had a significant effect on the number of leaves per plant, leaf area index, weight, and drying of roots, total chlorophyll, and antioxidants. Moreover, the interaction effect was significant for leaf area, root fresh and dry weight, antioxidants, and leaf lead content. The simple effect of lead at $p \leq 0.01$ significantly affected glycine betaine, malondialdehyde, and leaf phosphorus. When comparing the average mutual effects of lead and algae application, it was found that the treatment with no use of lead and spirulina algae resulted in the highest weight

1, 2, 3 and 4- M.Sc, Associate Professors and Ph.D. in Breeding and Biotechnology of Horticulture Plant, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: maelaei@znu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.75809.1158

and dry weight of the root, with an average of 11.19 and 3.625 grams, respectively. Additionally, despite the decrease in dry weight of the root due to increased lead concentration, using algae, especially for ornamental cabbage (*Brassica oleracea* L.), increased the dry weight of the root. The presence of natural plant hormones, organic substances, carbohydrates, fiber and amino acids in algae accelerates rooting, reduces stress caused by heavy metals and absorbs more water due to the presence of o developed root system. Also according to the results of comparing the amount of leaf lead with increasing lead, algae as an auxiliary factor can reduce the amount of uptake in the plant. Leaf phosphorus was also significant due to the simple effect of lead and algae. The highest amount of phosphorus with an average of 0.56% was observed in *spirulina* and the lowest with 0.48% was observed in control.

Conclusion

In general, due to the toxicity of lead metal even in low concentrations, sufficient attention should be paid to the sources of this pollutant entering the environment. In this study, the effective parameters on the uptake of heavy metal lead from the soil by spirulina and brown algae were investigated. The findings of this study indicate that the ornamental cabbage plant is capable of sustaining its growth in the presence of lead and has a high resistance to this heavy metal while simultaneously absorbing it from the soil. Furthermore, the addition of algae as an auxiliary factor can improve the growth of ornamental cabbage under adverse conditions. Therefore, it is recommended that this plant be further examined for its potential to absorb other heavy metals.

Keywords: Bio-fertilizer, Heavy metals, Malondialdehyde, Phosphorus, Phytoremediation

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۱، بهار ۱٤۰۲، ص. ۲۵۹-۲٤۵

اثر جلبک‌های اسپیرولینا و قهوه‌ای و سطوح سرب بر برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه کلم زینتی

افسانه هوشمند[۱]- میترا اعلائی[۲*]- مسعود ارغوانی[۳]- فهیمه صالحی[٤]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۴

چکیده

سرب یکی از فلزات سنگین و آلاینده‌های مهم زیست بوم شناخته شده است. استفاده از گیاهان جهت رفع آلودگی خاک یا گیاه‌پالایی، روشی مقرون به صرفه می‌باشد. امروزه با توجه به افزایش آلودگی منابع خاک و مشکلات ناشی از آن، شناسایی گیاهان مفید در این زمینه ضروری به‌نظری می‌رسد. این پژوهش به منظور بررسی تأثیر فلز سنگین سرب و کاربرد جلبک قهوه‌ای و اسپیرولینا بر کلم زینتی رقم 'پیچدار' (*Brassica oleracea* L.) و بررسی گیاه‌پالایی در این گیاه انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۹ در گلخانه تحقیقاتی و پژوهشی دانشگاه زنجان انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل سرب از منبع نیترات سرب با سه غلظت (صفر، ۲۵و۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در چهار تکرار و در دو مرحله با فاصله زمانی دو هفته به خاک گلدان‌ها اعمال شد. فاکتور دوم شامل عدم وجود جلبک (شاهد)، جلبک قهوه‌ای (*Polycladia indica*) و جلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) در چهار تکرار بود. صفات مورفوفیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده نیز شامل تعداد برگ‌های هر بوته، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، کلروفیل کل، آنتی‌اکسیدان کل، آنزیم پراکسیداز، گلایسین بتائین، مالون دی آلدهید، سرب برگ و فسفر برگ بود. نتایج تجزیه واریانس حاکی از تاثیر معنادار سطوح مختلف سرب و اثر جلبک‌ها بر صفات تعداد برگ‌های هر بوته، شاخص سطح برگ و وزن‌تر و خشک ریشه، کلروفیل کل و آنتی اکسیدان کل بود. علاوه بر این اثرات متقابل برای صفات شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، آنتی‌اکسیدان کل و میزان سرب برگ معنی‌دار گردید. مقادیر گلایسین بتائین، مالون دی آلدهید و فسفر برگ در اثر اصلی سرب در سطح یک درصد معنی‌دار شد. طبق نتایج مقایسه میانگین میزان سرب برگ با افزایش غلظت سرب بیشتر شده است که البته جلبک‌ها به عنوان یک عامل کمکی می‌توانند میزان جذب سرب موجود در گیاه را کاهش دهند. میزان فسفر برگ نیز تحت تاثیر اثر اصلی سرب و جلبک معنی‌دار شد و بیشترین میزان فسفر با میانگین درصد ۰/۵۶ درصد در جلبک اسپیرولینا و کمترین ۰/۴۸ درصد در شاهد مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: فسفر، فلزات سنگین، کود زیستی، گیاه‌پالایی، مالون دی آلدهید

مقدمه

امروزه یکی از اصلی‌ترین چالش‌ها در جهان، تجمع و سمیت فلزهای سنگین در محیط زیست و زنجیره غذایی است (Nriagu *et al.*,1988). این فلزات از طریق دخالت در واکنش‌های بیولوژیک سلول‌های موجودات زنده باعث اختلال در فعالیت‌های متابولیکی می‌شوند (Cheremisinoff, 2002). فلزات سنگین به عناصری با وزن اتمی بالا و وزنی بزرگتر از پنج گرم بر سانتی‌متر مکعب گفته می‌شود که در درجه حرارت اتاق خاصیت فلزی دارند. این فلزات در جدول تناوبی به گروه ۳ تا ۱۷ در تناوب ۴ و بعد از آن اطلاق می‌شود (Bhattacharya *et al.*, 2016). از دیر باز در میان این فلزات، فلز

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب کارشناسی ارشد، دانشیاران و دکترای اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: maelaei@znu.ac.ir
DOI: 10.22067/jhs.2022.75809.1158

سرب به عنوان یکی از مهم‌ترین آن‌ها و به عنوان یکی از آلاینده‌های محیطی به‌شمار می‌رود. این فلز به راحتی از راه هوا و ریشه گیاه جذب می‌شود و سمیت آن پس از کادمیم بیشتر از سایر فلزات سنگین می‌باشد (Mir Ahmadi *et al*., 2007). تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که فاضلاب‌ها و پساب‌های صنعتی کارخانه سرب و روی در استان زنجان یکی از مهم‌ترین منابع آلودگی آب و خاک می‌باشند (Golchin *et al*., 2005). روش‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی برای پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین به کار برده شده است که اغلب آن‌ها افزون بر هزینه زیاد، موجب تخریب ساختار فیزیکی و شیمیایی و فعالیت‌های حیاتی خاک شده و استفاده از آن‌ها در اراضی کشاورزی، تولید محصول را کاهش می‌دهند (Zarei *et al*., 2011). به تازگی پالایش این فلزها توسط گیاهان مورد توجه واقع شده است (Tu *et al*., 2002). گیاه‌پالایی مجموعه‌ای از فناوری‌هایی است که از گیاهان به منظور کاهش، تجمع و حذف سموم محیطی از جمله فلزات سنگین استفاده می‌شود (Ghosh and Singh, 2005). تصفیه بیولوژیکی یکی از روش‌های استاندارد و قابل قبول در سطح جهانی می‌باشد که در جهت کاربرد مجدد و بازیافت پساب‌های صنعتی استفاده می‌گردد (Ismaili *et al*.,2008). جلبک‌ها به عنوان یک کود بیولوژیکی می‌توانند به منظور افزایش عملکرد و بهره برداری در کشاورزی مورد استفاده قرار گیرند (Prakash *et al*., 2014). علاوه بر آن به دلیل وجود ترکیبات پلی‌ساکاریدی مانند کاراگینان و آلژینات در دیواره سلولی جلبک‌های دریایی، در مقایسه با سایر موجودات توانایی بالاتری در جذب بسیاری از فلزات دارند (Jafari and Ahmadi, 2013). اخیراً جلبک‌ها به ویژه جلبک قهوه‌ای به علت داشتن فوکوئیدان‌ها، توانایی بالایی در تصفیه فاضلاب‌ها دارند (Holan *et al*., 1993). یکی دیگر از جلبک‌های قابل استفاده، جلبک اسپیرولینا است که یک جلبک سبز آبی در آب و هوای گرم و دریاچه‌های آتشفشانی قلیایی می‌باشد و توانایی رشد در خاک‌های غیر قابل استفاده و غیر قابل کشت را دارد (Aly and Esawy, 2008). آل حمیدان و همکاران (Al-Homaidan *et al*., 2015) گزارش کردند که جلبک اسپیرولینا توانسته میزان بالایی از فلزات کادمیم را تا ۸۷ درصد از محیط آبی حذف کند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که خانواده کلم‌ها[1] جزء مهم‌ترین گیاهان برای زیباسازی فضای شهری و برداشت و حذف فلزات سنگین می‌باشند (Delorme *et al*., 2001 ; Ramos *et al*., 2002). از جمله کلم زینتی با نام علمی *Brassica oleraceae* می‌تواند در گیاه‌پالایی کاربرد مؤثری داشته باشد (Altagic and Secerov, 2005). از جمله عناصر سنگین و سمی که برخی از گیاهان این خانواده قادر به تحمل غلظت‌های بالای آن‌ها هستند می‌توان کادمیم، نیکل، سلنیوم، سرب و روی را نام برد (Przedpelska *et al*., 2007 ; Ghaderian *et al*., 2007 ; Warwick, 2011). عبداللهی و گلچین (Abdollahi and Golchin, 2018) توانایی جذب و انتقال سرب در سه رقم کلم شامل کلم برگ، کلم بروکلی و کلم زینتی را بررسی نمودند و بیان کردند که با توجه به حداقل کاهش عملکرد و سطح برگ کلم زینتی در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک نسبت به تیمار شاهد می‌توان به این نتیجه رسید که کلم زینتی در مقایسه با دو رقم دیگر مقاومت بیشتری به غلظت‌های بالای سرب دارد (Abdollahi and Golchin, 2018).

از آن‌جا که پژوهش‌های صورت گرفته روی گونه‌های مختلف گیاهان در مقابل آلایندگی عناصر سنگین واکنش‌های متفاوتی دارند و با آن که پژوهش‌هایی در زمینه کارایی کلم زینتی و همچنین جلبک سبز اسپیرولینا به منظور حذف آلودگی فلزات سنگین انجام گرفته است، اما تاکنون پژوهشی در راستای تأثیر متقابل جلبک اسپیرولینا و جلبک قهوه‌ای در خاک‌های ایران صورت نگرفته است. از این رو این تحقیق با هدف بررسی توانایی جلبک اسپیرولینا و جلبک قهوه‌ای به منظور زیست فراهمی فلز سرب در یک خاک آلوده توسط گیاه کلم زینتی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور مطالعه تأثیر جلبک‌ها بر صفات رویشی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کلم زینتی رقم پیچدار[2] تحت تیمار سرب از منبع نیترات سرب[3] به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. فاکتور اول شامل سه غلظت سرب (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و فاکتور دوم شامل سه سطح از جلبک (عدم وجود جلبک، جلبک قهوه‌ای[4] وجلبک اسپیرولینا[5]) بود. از ترکیب خاک، کوکوپیت، پرلیت به نسبت یکسان به منظور کشت بذر در سینی‌های کشت استفاده شد. آبیاری سینی‌های کشت روزی یک بار در شرایط محیطی تهویه مناسب، دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و بیشترین شرایط آفتابی برای نشاها صورت گرفت. پس از ظهور برگ‌های سوم و چهارم، دانهال‌ها در خاک باغچه، خاک برگ و کود دامی (به نسبت‌های مساوی) مستقر شدند و به مدت یک هفته در شرایط گلخانه آبیاری شده تا با محیط گلخانه تطابق یابد. قبل از اعمال تیمار، خاک گلدان تجزیه و آنالیز شد (جدول ۱). به منظور اعمال تیمار در این مرحله با استفاده از نیترات سرب و آب مقطر

1- Brassicaceae

2- kamom

3- $Pb(NO_3)_2$

4- *Polycladia indica*

5- *Arthrospira platensis*

محلول‌های یک لیتری با غلظت‌های صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از سرب تهیه گردید. آلوده‌سازی خاک به طور مصنوعی از طریق اسپری کردن با استفاده از این محلول‌های ساخته شده، انجام شد. همچنین برای یکسان‌سازی میزان نیترات در غلظت‌های مختلف سرب، از محلول ساخته شده از نمک نیترات پتاسیم استفاده شد که بعد از آلوده‌سازی به خاک اضافه شد. لازم به ذکر است با توجه به این که نمک به کار برده شده برای ایجاد آلودگی دارای بنیان نیترات بود، جهت ایجاد دقیق غلظت‌های مورد نیاز از سرب، محاسبات لازم انجام شد و میزان نیترات سرب استفاده شده به گونه‌ای بود که غلظت خالصی از سرب در هر سطح افزوده شود (Garazhin *et al.*, 2020 ; Kolahkaj *et al.*, 2017). با گذشت سه هفته از رشد کلم زینتی و اعمال تیمار سربی، تیمار دوم که شامل استفاده از جلبک می‌باشد به خاک گلدان‌ها اضافه شد. برای تهیه عصاره جلبکی ۵۰۰ گرم از پودر جلبک با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه جوشانده شد و در نهایت بعد از جوشاندن، حجم عصاره نهایی به میزان ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از عبور از صافی عصاره حاصل به عنوان ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد (Sivasankari *et al.*, 2006). آبیاری در هر نوبت با دقت و به منظور عدم آبشویی سرب در حد ظرفیت مزرعه‌ای صورت گرفت. در واقع ابتدا ظرفیت مزرعه‌ای خاک گلدان اندازه‌گیری شد (Alizadeh, 2008) و سپس براساس این میزان، آبیاری انجام گردید. و بعد از سه هفته، ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه شامل تعداد برگ‌های هربوته، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، کلروفیل کل، آنتی‌اکسیدان کل، آنزیم پروکسیداز، گلایسین بتائین، مالون دی آلدهید، سرب برگ و فسفر برگ مورد بررسی قرار گرفت. پس از اعمال تیمارها، تعداد برگ‌های هر بوته شمارش شد. در راستای اندازه‌گیری سطح برگ در ابتدا چند برگ از قسمت‌های مختلف گیاه انتخاب و جداسازی شد. سپس با استفاده از اسکنر برگ‌ها را اسکن نموده و به کمک نرم‌افزار Digimizer سطح برگ محاسبه و میانگین‌گیری شد. برای تعیین وزن تازه و خشک ریشه‌ها، بعد از جدا کردن اندام هوایی، ریشه‌های هر بوته را به طور مجزا کامل شسته و وزن تر هر ریشه توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم خوانده شد. سپس برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها در آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و وزن خشک آن‌ها به کمک ترازو خوانده شد (Arghavani, 2009). میزان فسفر در برگ به روش کالریمتری با دستگاه کالریمتری مدل (C 2000 Basic Version) ساخت آلمان و میزان سرب در برگ به روش مولر (Gupta, 2009) با دستگاه Digesdal (Hach co., USA) اندازه‌گیری شد. در نهایت، غلظت سرب نمونه‌های گیاهی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل (AA-670)Shimadzu., JP خوانده شد (Pitchel and Bradway, 2008).

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک قبل از شروع آزمایش

Table 1- Result of soil analysis before experiment start

پتاسیم K (mg.kg^{-1})	فسفر P (mg.kg^{-1})	pH	هدایت الکتریکی EC (ds.m^{-1})	نیتروژن N (%)	کربن آلی Organic carbon (%)	رس Clay (%)	سیلیت Silit (%)	شن Sand (%)
10	12.7	7.2	1.02	0.18	1.6	20	14	40

میزان کلروفیل کل

اندازه‌گیری میزان کلروفیل کل با استفاده از استون ۸۰ درصد و با روش آرنون (Arnon, 1949) صورت گرفت. در این روش مقدار ۰/۱ گرم بافت گیاهی را همراه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و بعد از سانتریفیوژ به کمک دستگاه اسپکتروفومتر (JENWAY مدل UV-6505) در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل کل محاسبه شد.

رابطه (۱)
$$\text{Total chlorophyll} = [(20.2 \times A645) - (8.02 \times A633)] \times V / 1000 \times W$$

A: جذب در طول موج مورد نظر

W: وزن بافت تازه

V: حجم نهایی عصاره کلروفیل در استون ۸۰ درصد

میزان آنتی‌اکسیدان کل

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از طریق درصد مهار رایکال‌های آزاد DPPH اندازه‌گیری و به صورت درصد بازدارندگی (DPPHsc %) بیان شد (۱۶). در این روش ۳/۹ میلی‌گرم از استوک (DPPH) را به همراه ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره حل و سپس بعد از ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد.

رابطه (۲)
$$RSC\% = \frac{(Ac - As)}{Ac} \times 100$$

As: جذب نمونه

Ac: جذب شاهد

RSC: ظرفیت مهارکنندگی رادیکال یا فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنزیم پراکسیداز

جهت اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز یک گرم از نمونه گیاهی را به

کمک نیتروژن مایع به همراه ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم (pH=7) با غلظت ۲۰۰ میلی‌مول در لیتر در هاون سابیده و عصاره حاصله، به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ می‌گردد. از پیش ماده گایاکول برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز استفاده شد. در این روش ۱۳۰ میکرولیتر بافر استخراج، ۲۸۰ میکرولیتر گایاکول ۴۵ میلی‌مولار، ۲۸۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۲۲۵ و ۱۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در کوت ریخته شد و کوت درون اسپکتروفتومتر قرار داده شد و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر هر ۱۰ ثانیه یک بار به مدت ۱۸۰ ثانیه به روش طیف سنجی نوری (اسپکتروفتومتری JENWAY مدل UV-6505) در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خوانده شد (Dhindas *et al.*, 1981).

میزان گلایسین بتائین

جهت اندازه‌گیری گلایسین بتائین، ۰/۵ گرم از برگ خشک شده با ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به صورت مکانیکی روی شیکر تکان داده شد. با اسید سولفوریک ۲ نرمال به نسبت ۱:۱ رقیق شده سپس به مدت ۶۰ دقیقه در حمام یخ سرد شد. مقدار ۰/۲ ملی‌لیتر یدید پتاسیم- ید (KI-I2) سرد به محلول‌ها اضافه و محلول به آرامی ورتکس شد. سپس نمونه‌ها در دمای صفر الی ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. نمونه‌ها با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از جداسازی روشناور کریستال‌ها در ۹ میلی‌لیتر دی کلرواتان حل شدند. بعد از ۲/۵ ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۶۵ نانومتر قرائت انجام شد و سپس بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک بیان گردید (Geieve and Grattan, 1983).

میزان مالون دی آلدئید

مالون دی‌آلدئید (MDA) به روش (Hanna *et al.*, 2007) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت برگ فریز شده، با ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل با سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول روشناور حاصل از سانتریفیوژ ۴ میلی لیتر محلول تری کلرو استیک اسید (TCA) ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم حرارت داده شده سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این پژوهش به کمک روش تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.4 انجام شد و جهت مقایسه میانگین‌ها، آزمون چنددامنه‌ای دانکن با نرم‌افزار MSTAT- C در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد مورد استفاده قرار گرفت .رسم نمودار به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

تعداد برگ‌های هر بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده سرب و جلبک بر صفت تعداد برگ‌های هر بوته در سطح احتمال یک درصد معنادار شد ولی اثر متقابل این دو معنادار نشد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها برای اثر ساده مصرف سرب نشان داد که بیشترین میزان برای تعداد برگ‌های هر بوته با میانگین۹۴/۸۳ مربوط به تیمار عدم مصرف سرب بود و کمترین میزان نیز با میانگین ۶۸/۰۸ مربوط به کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها مربوط به اثر ساده مصرف جلبک نشان داد که بیشترین تعداد برگ هر بوته با میانگین۸۷/۵۰ مربوط به کاربرد جلبک اسپیرولینا و کمترین میزان این صفت نیز با میانگین۷۸/۲۵ مربوط به تیمار عدم کاربرد جلبک (شاهد) شد. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که با به کار بردن غلظت بیشتر سرب در محیط رشدی کلم زینتی تعداد برگ‌های آن کاهش یافته و این خود یکی از پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر این تنش می‌باشد در صورتی که وجود جلبک اسپیرولینا باعث بهبود این روند دفاعی گشته و تعداد برگ افزایش می‌یابد. در تحقیقی مالا و همکاران (Malea *et al.*, 2005) با مطالعه اثرات روی مرگ و میر سلول‌های برگ به این نتیجه رسیدند که فلز روی در غلظت‌های بالا موجب نکروز سلول‌های اپیدرمی و مزوفیلی برگ و مهار رشد سطحی برگ‌ها در این گیاه شده است. به نظر می‌رسد که فلزات سنگین به روش‌های متعدد مانع رشد گیاهان می‌شوند. از طرفی فلزات سنگین با کاهش تورژسانس سلول موجبات کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلول را فراهم می‌آورند و از طرف دیگر، با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتوپلاسم و ایجاد اختلال در متابولیسم طبیعی سلول منجر به کاهش تعداد برگ و در نهایت کاهش رشد می‌گردند (Jing *et al.*, 2005). در صورتی که براساس نتایج پژوهش حاضر، وجود جلبک باعث افزایش جذب مواد غذایی از خاک شده و عملکرد گیاه کلم زینتی را بالا برده است.

شاخص سطح برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس سطح برگ گیاه کلم زینتی مشخص کرد که اثرهای ساده و متقابل کاربرد تیمار سرب و جلبک

بر عملکرد این صفت در سطح آماری یک و پنج درصد معنادار بودند (جدول ۲). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل سطح برگ نشان داد که بیشترین میزان با میانگین ۴۵/۵ سانتی‌متر مربع در هر بوته مربوط به عدم حضور سرب و جلبک اسپیرولینا بود و کمترین میزان با میانگین۲۴/۱ سانتی‌متر مربع در هر بوته مربوط به کاربرد تیمار ۵۰ درصد سرب و عدم تلقیح با جلبک بود (شکل ۱). با بررسی‌های انجام شده مشاهده شد که میزان سطح برگ با افزایش میزان غلظت سرب کاهش یافت و از آن‌جایی که تنش سرب رشد گیاه و فتوسنتز را کاهش می‌دهد، با تأثیر بر سطح برگ، موجب کاهش فتوسنتز نیز می‌شود. شارما و دوبی (Sharma and Dubey, 2005) کاهش سطح برگ در محیط حاوی فلزات سنگین را از پاسخ‌های عمومی گیاهان به محیط حاوی فلزات سنگین عنوان کردند. در مطالعات صورت گرفته توسط ازونیدو (Ouzounidou, 2004) پیشنهاد شد که ممانعت فلزات سنگین روی سطح برگ می‌تواند عمدتاً به علت تقسیم غیر معمول سلول باشد و علاوه بر آن ممکن است به ممانعت فلزات از فرآیندهای فتوسنتز و تنفس در بخش هوایی و سنتز پروتئین در ریشه بستگی داشته باشد و یا به علت کاهش تقسیم سلولی و رشد آن باشد (Ouzounidou, 2004). ساختمان جلبک دارای مقدار زیادی فیبر است که نقش بسزایی در بهبود خصوصیات فیزیکی، بیولوژیکی و شیمیایی گیاه داشته. علت افزایش سطح برگ در حضور جلبک می‌تواند وجود هورمون سیتوکنین باشد که با نظر نیلسون و همکاران (Nelson *et al.*, 1984) مطابقت داشت. مرادی و همکاران (Moradi *et al.*, 2019) با مقایسه میانگین داده‌ها نشان دادند که بیشترین اثر افزایشی سطح برگ گیاه کنجد در غلظت ۲۰ درصد عصاره جلبک سبز بوده است. سطح برگ تحت تأثیر عصاره جلبکی در غلظت ۱۰ و ۱۵ درصد به‌طور معناداری کاهش یافته است. سطح برگ گیاهان به عنوان یک عامل اساسی در فرآیندهای مهم رشد و نمو گیاه به تنش‌های محیطی پاسخ می‌دهند. همچنین سرب باعث ایجاد تنش آب شده و از این طریق باعث کاهش سطح برگ، فتوسنتز، وزن خشک گیاه و ارتفاع گیاه و تعداد برگ می‌گردد (Azmat *et al.*, 2009). شهبازی و همکاران (Shabazi *et al.*, 2015) بیان کردند در گیاه گندم هم میزان سطح برگ با اعمال کود مایع جلبکی (*Ulva fasciata* L.) در غلظت ۲/۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد رشد چشم‌گیری داشته است.

وزن‌تر و خشک ریشه

نتایج تجزیه واریانس وزن تر و خشک ریشه گیاه کلم زینتی نشان داد که اثر ساده و متقابل سرب و جلبک بر این صفت در سطح احتمال یک درصد معنادار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان وزن تر و خشک ریشه به ترتیب با میانگین ۱۱/۱۹ و ۳/۶۲۵ گرم مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و جلبک اسپیرولینا بود و کمترین میزان نیز با میانگین ۴/۰۷۷ و ۱/۴۹ گرم مربوط به تیمار کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و عدم تلقیح با جلبک به‌دست آمد (شکل ۲). طبق نتایج مشخص شد که، افزایش غلظت سرب موجب کاهش وزن خشک ریشه شده این در حالی است که با به کار بردن جلبک به خصوص (جلبک اسپیرولینا) وزن خشک ریشه افزایش یافت. وجود هورمون‌های طبیعی گیاهی، مواد آلی، کربوهیدرات‌ها، فیبر و اسیدهای آمینه در جلبک موجب تسریع ریشه‌زایی، کاهش استرس ناشی از فلزات سنگین و جذب بیشتر آب به دلیل وجود سیستم توسعه یافته ریشه می‌گردد.

جدول ۲- اثر تنش سرب و جلبک بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی کلم زینتی

Table 2- The effect of lead and algae stress on some morphophysiological traits of ornamental cabbage

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares				
		تعداد برگ هر بوته Number of leaves per plant	شاخص سطح برگ Leaf area index	وزن تر ریشه Root wet weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	کلروفیل کل Total chlorophyll
سرب Lead	2	2206.75**	516.65**	58.89**	5.38**	0.23**
جلبک Algae	2	257.25**	73.67**	9.86**	0.69**	0.04**
سرب×جلبک Lead × Algae	4	30.87ns	19.55*	3.20**	0.27**	0.002ns
خطا Error	27	27.45	6.29	0.62	0.05	0.002
ضریب تغییرات C.V (%)	-	6.33	7.13	11.73	9.84	11.9

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد می باشد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq 0.01$ and $p\leq 0.05$, respectively

ادامه جدول ۲- اثر تنش سرب و جلبک بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی کلم زینتی

Continued Table 2- The effect of lead and algae stress on some morphophysiological traits of ornamental cabbage.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares					
		آنتی‌اکسیدان Antioxidants	آنزیم پروکسیداز Peroxidase	گلایسین بتائین Glycine betaine	مالون دی آلدهید MDA	سرب برگ Leaf Lead	فسفر برگ Leaf Phosphorus
سرب Lead	2	1.84**	0.04**	0.008**	0.08**	1757.30**	0.08*
جلبک Algae	2	0.13**	0.002*	0.0003*	0.02**	153.33**	0.02**
سرب×جلبک Lead × Algae	4	0.02**	0.002^{ns}	0.00003^{ns}	0.002^{ns}	6.35**	0.0022^{ns}
خطا Error	27	0.004	0.0004	0.00008	0.003	1.75	0.0019
ضریب تغییرات C.V (%)	-	6.42	10.99	14.81	17.12	7.34	8.17

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد می باشد.

^{ns}, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively

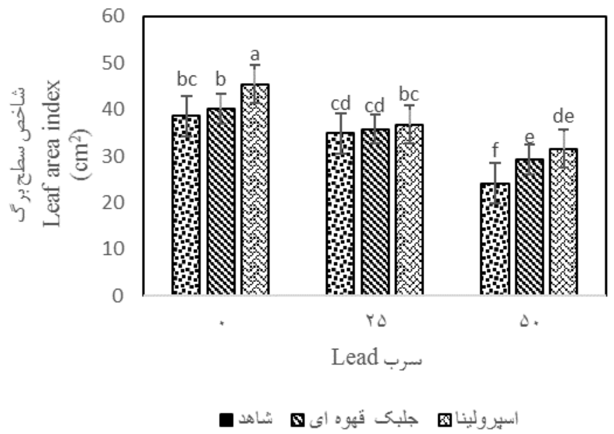
جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف سرب و جلبک بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی کلم زینتی

Table 3- The effect of different concentrations of lead and algae on some morphophysiological traits of ornamental cabbage

تیمارها Treatments	تعداد برگ‌های هر بوته Number of leaves per plant (m^2)	کلروفیل کل Total chlorophyll ($mg.g^{-1}$ FW)	فسفر برگ Leaf Phosphorus (%)	پراکسیداز Peroxidase ($\mu mol.g^{-1}$FW)	گلایسین بتائین Glycine betaine ($mg.g^{-1}$ FW)	مالون دی آلدهید MDA ($mg.g^{-1}$ FW)
سرب (شاهد) Lead (control)	94.83^{a}	0.69^{a}	0.61^{a}	0.14^{c}	0.03^{c}	0.28^{c}
سرب ۲۵ Lead 25	85.33^{b}	0.55^{b}	0.53^{b}	0.19^{b}	0.07^{b}	0.38^{b}
سرب ۵۰ Lead 50	68.08^{c}	0.41^{c}	0.45^{c}	0.26^{a}	0.08^{a}	0.45^{a}
جلبک (شاهد) Algae (control)	78.25^{b}	0.36^{b}	0.48^{b}	0.21^{a}	0.067^{a}	0.41^{a}
جلبک قهوه‌ای Brown algae	82.50^{b}	0.41^{a}	0.55^{a}	0.20^{ab}	0.060^{ab}	0.36^{b}
جلبک اسپیرولینا Spirulina algae	87.50^{a}	0.53^{a}	0.56^{a}	0.18^{b}	0.050^{b}	0.33^{b}

حروف مشابه در هر ستون نشان‌گر عدم تفاوت معنادار در سطح احتمال یک درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Similar letters each column indicate no significant difference at $p\leq0.01$ based Duncan's multiple range test.

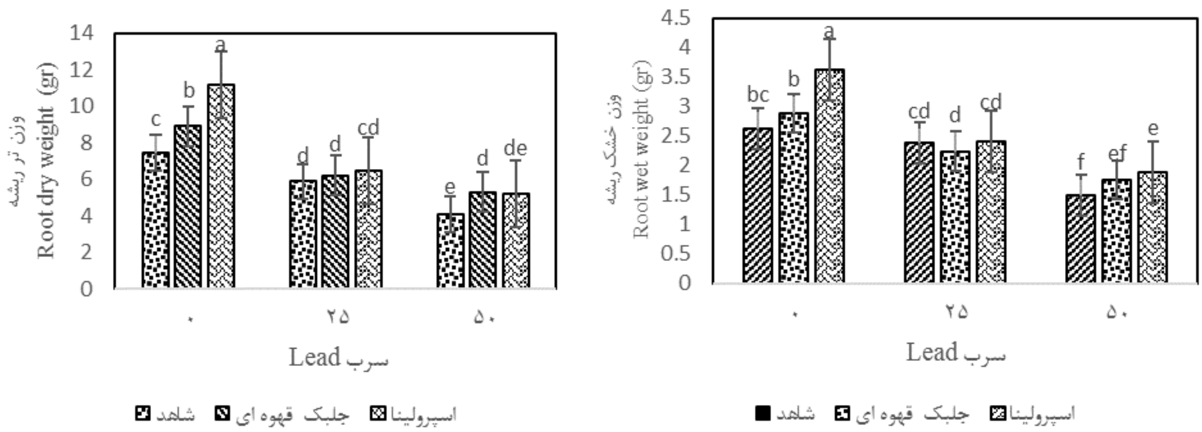


شکل ۱- اثر متقابل کاربرد جلبک × سرب بر سطح برگ کلم زینتی

Figure 1- The interaction effect of algae ×lead application on the leaf area of ornamental cabbage. (DMRT, $p≤0.05$)

عنصر سرب روی فتوسنتز و تنفس گیاه، از طریق تأثیر بر مکانیزم‌های انتقال الکترون نقش بازدارندگی ایفا می‌کند. بنابراین سرب با کاهش و ممانعت از فتوسنتز و تنفس گیاه سبب کاهش تولید ماده خشک و رشد گیاه می‌شود (Rezvani *et al.*, 2012). ریشه‌ها به عنوان سطوح جذب‌کننده آب و مواد غذایی تأثیر بسیار زیادی در جذب آب و املاح گوناگون دارند و عوامل مختلف محیطی از طریق تأثیر بر ریشه بر رشد گیاه نیز اثر می‌گذارند. عدم توسعه و گسترش مناسب سیستم ریشه‌ای باعث کاهش سطوح جذب‌کننده مواد غذایی، تغییر در ساختار غشاء سلولی و کاهش جذب و محتوی آب می‌شود که این امر در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تعرق، تنفس و فتوسنتز اثر گذاشته و در پایان موجب کاهش رشد سایر قسمت‌های گیاه از جمله زیست توده و سطح برگ می‌شود (Sharma and Dubey, 2005).

در تحقیقی که توسط متشرع‌زاده و همکاران (Motasharzadeh *et al.*, 2013) صورت گرفت بیان نمودند که بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و کمترین وزن آن در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بود که به ترتیب برابر ۰/۴۵۶ و ۰/۳۶۵ گرم در گلدان بود و با افزایش غلظت سرب خاک، وزن خشک ریشه نیز کاهش یافت (Motasharzadeh *et al.*, 2013). کاهش رشد ریشه تحت تنش سرب می‌تواند به دلیل تجمع زیاد سرب در ریشه، لیگنینی شدن دیواره تحت تأثیر فلز سنگین (Almedia *et al.*, 2007)، تأثیر مستقیم فلز سنگین بر هسته سلولی (Dauda *et al.*, 2009) و برهمکنش فلزات سنگین با گروه‌های سولفیدریل غشاء سلول‌ها و غیرفعال کردن آنها باشد (Khudsar *et al.*, 2000).



شکل ۲- اثر متقابل کاربرد سرب × جلبک بر وزن تر و خشک ریشه کلم زینتی

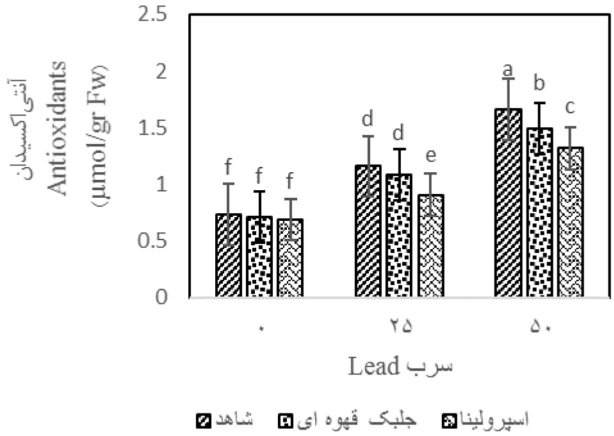
Figure 2- The interaction effect of algae ×lead application on the rootfresh and dry weight of ornamental cabbage. (DMRT, $p≤0.05$)

کلروفیل کل

نتایج ارائه شده نشان داد (جدول ۲) که اثر ساده مصرف سرب و کاربرد جلبک بر میزان کلروفیل کل کلم زینتی در سطح احتمال یک درصد معنادار شد. نتایج مقایسه میانگین اثر ساده مصرف سرب برای میزان کلروفیل کل نشان داد که بیشترین میزان (با میانگین ۰/۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار عدم مصرف سرب و کمترین میزان (با میانگین ۰/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب است. نتایج مقایسه میانگین‌ها مربوط به اثر ساده کاربرد جلبک بر این صفت نشان داد که بیشترین مقدار برای میزان کلروفیل کل با میانگین ۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به کاربرد جلبک اسپیرولینا و کمترین میزان برای این صفت نیز با مقدار ۰/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به عدم استفاده از جلبک (تیمار شاهد) بود. علاوه بر این بین تیمار عدم وجود سرب و دو نوع جلبک اختلاف معناداری وجود نداشته است. با افزایش تنش فلز سرب میزان کلروفیل کل کاهش یافت همچنین کاربرد جلبک به خصوص جلبک اسپیرولینا توانست مقدار کلروفیل کل را نسبت به عدم کاربرد جلبک افزایش دهد. جلبک‌ها روی گیاهان فتوسنتز را تحریک کرده و منجر به تولید بهتر قند و نشاسته می‌شوند. همچنین با بهبود فرآیند کلروفیل سازی، جلوی زردی برگ‌ها را گرفته و باعث افزایش کارایی فتوسیستم می‌گردد. این احتمال وجود دارد که جلبک با افزایش مقادیر کلروفیلی با سمیت فلز سنگین مقابله می‌کند و احتمال یک جاذب مناسب را مطرح می‌کند. سرب با ایجاد اختلال در جذب فلزات ضروری مثل منیزیم و آهن مانع سنتز کلروفیل می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). در واقع فلزات سنگین فرآیندهای متابولیکی را از طریق ممانعت از عمل آنزیم‌ها کاهش می‌دهند. در اثر تنش فلزات سنگین ممانعت از عمل آنزیم لوولینیک‌اسید دهیدراتاز صورت می‌گیرد که این ممانعت، فعالیت فتوسنتزی گیاهان را از طریق کاهش محتوای کلروفیل کاهش می‌دهد (Geebelen *et al*., 2002). به نظر می‌رسد جایگزین شدن یون منیزیم مرکزی کلروفیل به وسیله فلزات سنگین صدمه دیگری است که موجب جلوگیری از به دام انداختن نور فتوسنتزی و در نتیجه از بین رفتن کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌شود. کاهش محتوای کلروفیل می‌تواند دلیل بارزی برای کاهش فعالیت فتوسنتز و درنتیجه کاهش تثبیت کربن در اثر غلظت‌های بالای فلزات سنگین باشد (Marchiol *et al*., 2004). عصاره‌های جلبک دریایی حاوی مقادیر زیادی سیتوکینین، اکسین و بتائین هستند که غلظت کلروفیل در برگ‌ها را افزایش می‌دهند (Shehata *et al*., 2003). در واقع پژوهشگران اثر جلبک دریایی را در افزایش رشد، به‌ویژه در شرایط تنش‌های محیطی، به محرک‌های رشدی که توسط جلبک‌ها ایجاد می‌شوند و شامل سیتوکینین‌های ترانس زآتین و مواد اکسینی می‌باشد، نسبت می‌دهند (Crouch *et al*., 1993). همچنین افزایش میزان کلروفیل توسط بتائین و مواد شبه بتائین (Begzadeh *et al*., 2020) یا ممانعت از تخریب کلروفیل نیز توسط جلبک‌ها اثبات شده است (Xu *et al*., 2015).

آنتی اکسیدان کل

بررسی نتایج ارائه شده در (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده و متقابل کاربرد تیمار سرب و جلبک بر آنتی‌اکسیدان کل در سطح احتمال یک درصد معنادار بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان با میانگین ۱/۶۶ میکرومول بر گرم وزن‌تر مربوط به کاربرد تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب و عدم تلقیح با جلبک بود و کمترین میزان با میانگین ۰/۶۸۷ میکرومول برگرم وزن‌تر مربوط به عدم کاربرد سرب و جلبک اسپیرولینا بود (شکل ۳). پایین بودن پراکسیداسیون لیپیدی در جلبک تحت استرس اکسیداتیو، به علت اثرات حفاظتی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که از جمله آن‌ها می‌توان به افزایش متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنولی اشاره نمود (Stanisavljevic *et al*., 2012). به دنبال این آسیب اکسیداتیو، میزان آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد (Mtolera *et al*., 2012). از آنجا که محتوای آنتی‌اکسیدان کلم زینتی با توجه به نتایج به‌دست آمده در غلظت بالای سرب، نسبت به شاهد افزایش یافته می‌توان گفت که این گیاه توانایی بالایی در برابر تنش فلزات سنگین دارد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به طور کل به گروهی از ترکیبات مربوط می‌شود که توانایی حفظ سیستم‌های بیولوژیکی را در برابر اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن دارند. در حقیقت آنتی اکسیدان‌ها نقش مهمی در مهار گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و جلوگیری از تشکیل آن‌ها ایفا می‌کنند (Singh *et al*., 2011). هانا و همکاران (Hanaa *et al*., 2007) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحت تنش فلز سرب برآورد کردند و نتایج آن‌ها نشان داد که با افزایش غلظت ماده القاکننده تنش، میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. با توجه به اینکه افزایش محتوای آنتی اکسیدانی در برابر تنش، شانس زنده‌مانی بالاتری به گیاه می‌دهد درنتیجه گیاه کلم زینتی تحت تیمار سرب با افزایش میزان آنتی‌اکسیدان تحمل خود را در برابر تنش بالا برده است.



شکل ۳- اثر متقابل کاربرد سرب × جلبک بر میزان آنتی‌اکسیدان کلم زینتی

Figure 3- The interaction effect of algae ×lead application on the leaf antioxidants content of ornamental cabbage. (DMRT, $p \leq 0.05$).

آنزیم پراکسیداز و میزان گلایسین بتائین و مالون دی آلدهید

بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) مشخص شد که اثرات ساده سرب و جلبک در صفات مالون دی‌آلدئید، گلایسین بتائین و پراکسیداز معنادار شدند نتایج مقایسه میانگین‌ها اثر اصلی سرب برای صفات فوق به ترتیب نشان داد که بیشترین میزان فعالت آنزیم‌های نام برده مربوط به غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب به ترتیب با مقادیر ۰/۴۵ و ۰/۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر و ۰/۲۶ میکرومول بر گرم وزن‌تر بود و کمترین مقادیر نیز با میانگین ۰/۲۸ و ۰/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و ۰/۱۴ میکرومول بر گرم وزن‌تر مربوط به تیمار عدم مصرف سرب بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها اثر ساده جلبک برای این صفات بیان می‌دارد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها به ترتیب در میانگین ۰/۴۱ و ۰/۰۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و ۰/۲۱ میکرومول بر گرم وزن‌تر مربوط به تیمار شاهد و عدم مصرف جلبک بود در حالی که کمترین میزان با میانگین ۰/۳۳ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و ۰/۱۸ میکرومول بر گرم وزن‌تر مربوط به کاربرد جلبک اسپیرولینا می‌باشد (جدول ۳). کاربرد سرب موجب افزایش میزان گلایسین‌بتائین، مالون دی آلدهید و پراکسیداز در غلظت بالا (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) شد. از جمله مهم‌ترین پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین، می‌توان به تغییر فرآیندهای متابولیک گیاه، افزایش تولید تنظیم‌کننده‌های اسمزی، آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد محافظت‌کننده اشاره کرد (Seregin *et al.*, 2001). گلایسین بتائین موجود در جلبک‌ها موجب کاهش و مقابله با اثرات سوء ناشی از استرس فلزات سنگین می‌گردد. همچنین سیتوکنین موجود در جلبک‌ها رادیکال‌های آزاد القاکننده استرس را به‌طور مستقیم مهار می‌کند. گلایسین بتائین معمولی‌ترین محلول آلی سازگار است که در بیشتر میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات وجود دارد و جز فراوان‌ترین ترکیب‌ها در گیاهان می‌باشد که به تنش پاسخ می‌دهد (Yang *et al.*, 2003). این محلول فاقد اثرات سمی بوده و قادر به محافظت از گیاه در برابر انواع تنش‌ها همچون فلزات سنگین بوده و با خنثی‌سازی سمیت انواع اکسیژن فعال، کاهش آسیب سلولی، تنظیم اسمزی سلول و حفاظت از آنزیم‌های مختلف، تحمل گیاه را به تنش افزایش داده و در شرایط تنش نقش تنظیم‌کننده اسمزی را اجرا می‌کند (Ashraf and Foolad, 2007).

طبق مطالعات انجام شده بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به غلظت (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان آن به شاهد تعلق داشت. با افزایش نیترات سرب در کلم زینتی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز افزایش یافت. آنزیم پراکسیداز در بین آنزیم‌های آنتی اکسیدان نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن به ویژه پراکسید هیدروژن دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که حضور فلزاتی از قبیل مس، سرب، آلومینیوم و کادمیم سبب افزایش فعالیت این آنزیم گردید. قلیچ و همکاران (Qelich *et al.*, 2015) در آزمایشی گزارش نمودند که فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه گیاهان تحت تیمار سرب نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است.

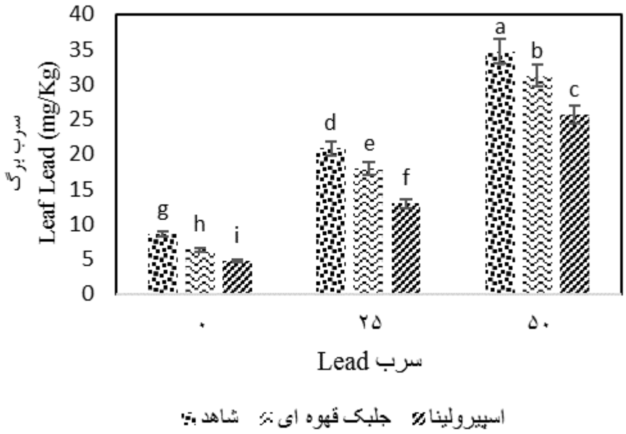
مالون دی آلدئید یک شاخص نشان دهنده خسارت و آسیب غشاء هست که افزایش میزان این آنزیم بیانگر افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در شرایط تنش فلزات سنگین از جمله سرب است (Yu *et al.*, 2006). در شرایط تنش در گیاه گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن[1] تولید می‌شوند، که این رادیکال‌ها باعث

1- ROS: Reactive Oxygen Species

خسارت به غشا می‌شوند. شاخص خسارت غشاء مالون دی آلدئید است که حضور جلبک باعث شده گیاه در شرایط بهتری قرار گیرد، بنابراین این آنتی‌اکسیدان‌ها (گلیسین بتائین و پراکسیداز) حالت کاهشی داشته و انتظار می‌رود جلبک سبب شرایطی شده که گیاه عملکرد بهتر در این شرایط و روند رو به رشدی یافته است.

میزان سرب برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده و متقابل تیمار سرب و جلبک بر میزان سرب برگ (اندام هوایی) در سطح احتمال یک درصد معنادار بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سرب در اندام هوایی نشان داد که بیشترین میزان با میانگین ۳۴/۷ میکروگرم بر کیلوگرم مربوط به کاربرد تیمار ۵۰ درصد سرب و عدم تلقیح با جلبک بود و کمترین میزان با میانگین ۴/۱۶ میکروگرم بر کیلوگرم مربوط به تیمار عدم کاربرد سرب و جلبک اسپیرولینا بود (شکل ۴). در گیاه کلم زینتی افزایش غلظت سرب بر میزان غلظت این فلز در اندام هوایی این گیاه تأثیر بسزایی داشته وافزایش قابل توجهی را نشان داد. از این رو بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که، افزایش غلظت سرب در برگ‌ها نسبت به شاهد بیان کننده گیاه‌پالایی بالای این گیاه می‌باشد. در تحقیقی که توسط قلیچ و همکاران (Qelich *et al.*, 2015) صورت گرفت بیان کردند که بیشترین میزان جذب سرب در ریشه و اندام هوایی در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار سرب بوده و کمترین مقادیر متعلق به گروه شاهد بود. فلز سرب، در واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه کارکرد مشخصی ندارد، اما به علت شباهت شیمیایی با عناصر ضروری امکان جذب آن توسط گیاهان وجود دارد (Pais and Jones, 2000). احتمال بالا بودن این میزان در برگ‌ها به آلوده بودن هوای منطقه مربوط است که پیشنهاد می‌شود در مطالعات دیگر به اندازه‌گیری میزان سرب در هوای محیط پرداخته شود.



شکل ۴- اثر متقابل کاربرد سرب × جلبک بر محتوی سرب در برگ کلم زینتی

Figure 5- The interaction effect of algae ×lead application on the lead content of ornamental Cabbage. (DMRT, $p \leq 0.05$)

میزان فسفر برگ

نتایج بررسی تجزیه واریانس فسفر در اندام هوایی این گیاه نشان داد که اثر ساده کاربرد تیمار سرب و جلبک در سطح احتمال یک درصد معنادار شد. (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر ساده مصرف سرب نشان داد که بیشترین میزان فسفر برگ با میانگین ۰/۶۱درصد مربوط به تیمار عدم مصرف سرب بود و کمترین میزان نیز با میانگین ۰/۴۵ درصد مربوط به کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین مربوط به اثر ساده مصرف جلبک نیز نشان داد که بیشترین فسفر برگ هر بوته با میانگین۰/۵۶ درصدمربوط به کاربرد جلبک اسپیرولینا و کمترین میزان این صفت نیز با میانگین۰/۴۸ مربوط به تیمار عدم کاربرد جلبک (شاهد) شد (جدول ۳). سرب در اندامک‌های واکوئل، دیواره سلولی، و در برخی سلول‌ها در سیتوپلاسم و هسته تجمع می‌یابد. علاوه بر این سرب در برخی ژنوتیپ‌ها دیواره سلولی قادر است با افزایش جذب فسفر و استفاده از این عنصر در برابر تنش فلز سنگین تحمل بالایی را نشان دهد (Sychta *et al.*, 2018). جلبک‌ها باعث مصرف مواد مغذی بخصوص فسفر می‌شوند که در ساخت ترکیبات درون سلولی نظیر فسفولیپیدها، نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئوئیک نقش اساسی دارند (Powell *et al.*, 2008).

نتیجه‌گیری

در مجموع با توجه به سمیت فلز سرب حتی در غلظت‌های

کم، باید توجه کافی به منابع ورودی این آلاینده به محیط زیست معطوف گردد. ارزیابی میزان مقاومت کلم زینتی در حضور غلظت‌های مختلف فلز سرب نشان داد با افزایش غلظت این فلز، کاهش رشد دانهال در صفاتی مانند وزن تر و خشک ریشه، کلروفیل کل، تعداد برگ در هر بوته و فسفر برگ مشاهده شد. بیشترین تأثیر سمیت فلز در غلظت ۵۰ میلیگرم در کیلوگرم بود که در این تحقیق وجود جلبک به خصوص جلبک اسپیرولینا سبب بهبود رشدی گیاه کلم زینتی گردید و گیاه از مقاومت بهتری نسبت به غلظت بالای فلز سرب پیدا کرد. در این صورت می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد سرب در محیط رشد گیاه کلم زینتی، صفات رشدی این گیاه را کاهش می‌دهد ولی با حضور جلبک اسپیرولینا می‌توان از کاهش رشد جلوگیری کرد و عمل گیاه‌پالایی را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین تسریع نمود.

منابع

1. Abdollahi, S., & Golchin, A. (2018). Evaluate ability of uptake and translocation of lead in three varieties of Cabbage. *Iranian Journal of Soil and Water Research 49*(1): 145-158. (In Persian with English abstract).
2. Al-Homaidan, A.A., Alabdullatif, J.A., Al-Hazzani, A.A., Al-Ghanayem, A.A., & Alabbad, A.F. (2015). Adsorptive removal of cadmium ions by Spirulina platensis dry biomass. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22: 1-6.
3. Alizadeh, A. (2008). *Water, soil, plant*. Astane ghodse razavi, 8*th* edition.
4. Altagic, J., & Secerov-Fiser, V. (2005). Interspecific hybridization and cytogenetic studies in ornamental sunflower breeding. *Experimental Agriculture* 45: 93-97.
5. Almeida, A.F., Valle, A.A., Mielke, M.S., Gomes, F.P., & Braz, J. (2007). Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. *Plant Physiol*ogy 19:83-98.
6. Aly, M.S., & Esawy, M.A. (2008). Evaluation of Spirulina Platensis as bio. stimulator for organic farming systems. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 6*(2): 1-7.
7. Arghavani, M. (2009). *Physiological and morphological study of Lollium and Poa Pratensis grasses, under the influence of tringazapkatil application, head management and nitrogen source under salinity stress*. Ph.D. Thesis. Department of Horticulture, University of Tehran. Pp 97-102.
8. Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology* 24: 1-15.
9. Ashraf, M., & Foolad, M. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
10. Azmat, R., Haider, S., Hajra, N., & Farha, A. (2009). A viable alternative mechanism in adapting the plants to heavy metal environment. *Pakistan Journal of Botany 41*(6): 2729-2738.
11. Begzadeh, S., Maleki, A., Mirzaei hidarei, M., Rangin, A., & Khorgami. (2020). Effect of application of salicylic acid and seaweed extract (Ascophyllum nodosum) some physiological traits of white bean (*Phaseolus lanatus*) under drought stress conditions, *Scientific Journal of Crop Ecophysiology* 21.
12. Bhattacharya, P.T., Misra, S.R., & Hussain, M. (2016). Nutritional aspects of essential trace elements in oral health and disease: an extensive review. *Scientifica* Pp 25-38.
13. Crouch, I., & Van Staden, J. (1993). Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products. *Plant Growth Regul 13*(1): 21–29.
14. Cheremisinoff, N.P. (2002). *Handbook of water and waste water treatment technologies*. Butter worth Heinemann, Technology and Engineering.
15. Dauda, M.K., Variatha, M.K., Shafaqat, A., Najeeba, U., Jamilb, M., Hayat, Y., Dawooda, M., Khand, M.I., Zaffar, M., Cheemad., S.A., Tonga, X.H., & Zhua, S. (2009). Cadmiuminduced ultramorphological and physiological changes in leaves of two transgenic cotton cultivars and their wild relative. *Journal Hazard Mater* 168: 614-625.
16. Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. *Food Chemistry 131*(2): 422-426.
17. Delorme, T.A., Gagliardi, J.V., Aanle, J.S., & Chaney, R.L. (2001). Influence of the Zinc hyperaccumulator Thlaspi caerulescens J. & C. Presl and the nonmetal accumulator Trifolium Pratense L. on soil microbial populations. *Canadian Journal Micorobiol*ogy *47*(8): 773-776.
18. Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P., & Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of member permeability and peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Jounal of Experimental Botarry 32*(1): 93-101.
19. Garazhian, H., Emami, A., Fotovat, A., & Amiri Khaboushan, E. (2020), Comparison phytoremediation potential of Pb from contaminated soil by Vetiveria zizanioides and Brassica oleraceae, *Journal of Soil Management and Sustainable 10*(2): 1-23. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22069/ejsms.
20. Geebelen, W., Vangronsveld, J., Adriano, D.C., Van Poucke, L.C., & Clijsters, H. (2002). Effects of Pb-EDTA and EDTA on oxidative stress reactions and mineral uptake in Phaseolus vulgaris. *Physiologia Plantarum* 115:

377-384. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1150307.x

21. Ghaderian, S.M., Hemmat, G.R., Reeves, R.D., & Baker, A.J.M. (2007). Colonizing a metal mining area in Central Iran. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 18: 145-150.
22. Ghosh, M., & Singh, S.P.A. (2005). Review on Phytoremediation of Heavy Metals and Utilization of It's by Products. *Journal Energy Environmental 6*(04): 214 -231.
23. Golchin, A., Ismaili, M., & Takasi, m. (2005). *Contaminant sources of soil and agricultural and horticultural products of Zanjan province to heavy metals*, Management and Planning Organization of Zanjan province, Pp 134.
24. Grieve, C., & Grattan, S.J.P. (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Soil* 70: 303-307.
25. Gupta, P.K. (2009). Soil plant water and fertilizer Analysis. Agrobios pub, *New Dehli* 4: 40-88.
26. Hanaa, H., Baky, A.E., Baz, F.K.E., & Gamal, S. (2007). Enhancement of Antioxidant Production in *Spirulina Platensis* under Oxidative Stress. *Eurasian J. of Scientific Research 2*(2): 170-179.
27. Holan, Z.R., Volesky, B., & Prasetyo, I. (1993). Biosorption of cadmium by biomass of marine algae. Biotechnologe. *Bioengeneering* 41: 819-825. https://doi.org/10.1002/bit.260410808.
28. Ismaili, A., Beyrami, P., Roustaian, A., & Beyrami, A. (2008). Investigation of biological uptake of Co (II) ions from aqueous solutions by *Gracylaria algae*. *Scientific Information Database Journal 1*(12): 8-2.
29. Jafari, N., & Ahmadi asbchin, S. (2013). Adsorption of cadmium and lead ions from aqueous solution by brown algae Cystoseira indica. Journal of plant researches. *Iranian journal of biology*, 27 (1): 23-31. (In Persian with English abstract) https://doi.org/10.1021/ie302011n
30. Jing, D., Fei-bo, W.U., & Guo-ping, Z. (2005). Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. *Journal of Zhejiang University Sinece 6*(10): 974-980.
31. Khudsar, T., Uzzafar, M., Soh, W.Y., & Iqbal, M. (2000). Morphological and anatomical variations of *Cajanus cajan* (Linn. Huth) raised in cadmium-rich soil. *Journal Plant Biology* 43: 149-157. https://link.springer.com/article/10.1007/BF03030492 - Search (bing.com)
32. Kolah kaj, A., & Mohammadi Rouzbahani, M. (2017). Survey Effectiveness of *Althea officinal* in Pb Heavy Metal Accumulation, *Science and Technology Ocean Sist 19*(1): 72-73. (In Persian)
33. Malea, P., Kevrekidis, T., & Haritonidis, S. (2005). The short term uptake of zinc and cell mortality of the sea grass Halophyllastipulecea. *Journal Plant Science* 43: 21-30.
34. Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P., & Zerbi, G. (2004). Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environmental Pollution 1*(32): 21-27.
35. Mir Ahmadi, H., & Safari Sanjani, A. (2007). *Soil contamination with lead and its reduction trend in some soils of Gilan*. 10th Iranian Soil Science Congress.
36. Moradi, F., Najafi, S.h., & Esmailzadeh Bhabadiy, S. (2019). The effect green algae extract (*Ulva fasciata* L.) on growth and physiological indices of sesame plant (*Sesamum indicum* L.). *Journal of Plant Process and Function* 14-1.
37. Motasharzadeh, B., Aghaei, L., & Sawaghebi, G.h.R. (2013). The effect of cadmium and lead application on the absorption of these elements and the growth of two cultivars of pinto beans. *Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences 2*(2): 252-223.
38. Mtolera, M.S.P., Collen, J., Pedersen, M., & Semesi, A.K. (2012). Destructive hydrogen peroxide production in *Eucheuma denticulatum* (Rhodophyta) during stress caused by elevated pH, high light intensities and competition with other species. *European Journal of Phycology 30*(4): 289-297. https://doi.org/10.1080/09670269500651071
39. Nelson, W., & VanStaden, J. (1984). The effect of seaweed concentrates on wheat culms. *Journal of Plant Physiology* 115: 433-437.
40. Nriagu, J.O., & Pacyna, J.M. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soil by trace metals. *Nature* 333: 134-139.
41. Ouzounidou, G. (2004). Cu ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu tolerant Koeleriasplendens. *Biologia Plantarum* 37: 71- 78.
42. Pais, I., & Jones, J.B. (2000). *The Handbook of Trace Elements*. St. Luice Press. Florida 223-224.
43. Pitchel, J., & Bradway, D.J. (2008). Conventional crops and organic amendments for Pb, Cd and Zn treatment at a severely contaminated site. *Bioresource Technology* 99: 1242-1251.
44. Powell, N., Shilton, A.N., Pratt, S., & Chisti, Y. (2008). Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. *Environmental Science and Technology* 42: 5958-5962.
45. Prakash, P.S., Medhi, S., Saikia, G., Narendrakumar, A., Thirugnanasambandam, L., & Abraham, S. (2014). Production, formulation and application of seaweed liquid fertilizer using humic acid on growth of *Arachis hypogaea*. *Biosciences Biotechnology Research Asia 11*(3): 1515-1519.
46. Przedpelska, E., & Wierzbicka, M. (2007). Arabidopsis arenosa (Brassicaceae) from leadzinc waste heap in southern Poland a plant with high tolerance to heavy metals. *Plant & Soil* 299: 43-53. https://doi.org/10.1007/s11104-007-9359-5.
47. Qelich, S., Zarrin Kemar, F., & Niknam, A. (2015). Investigation of lead accumulation and its effect on peroxidase

activity, content of phenolic and phallonoid compounds in the germination stage in alfalfa (*Sativa Medicago* L.). *Journal Plant Research 22*(3): 314-313.
48. Ramos, I., Estcban, E., Luccna, J.J. & Garate, A. (2002). Cadmium uptake and subccllular distribution in plants of *Lactuca sp.* Cd-Mn interaction. *Plant Science* 162: 761-767.
49. Rezvani, M., Zafarian Fand Qolizadeh, A. (2012). Absorption of lead and nutrients by saline grass plant under the influence of different levels of lead in the soil. *Journal of Water and Soil 22*(3): 234-236.
50. Seregin, I.V., & Ivanov, V.B. (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Plant physiology 48*(4): 523-544.
51. Shahbazi, F., Seyyed nejad, M., Salimi, A., & Gilani, A. (2015). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of wheat. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences 8*(3): 283-287.
52. Sharma, P., & Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology 17*(1): 35-52.
53. Shehata, M.M., & El-Khawas, S.A. (2003). Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower (*Helianthus annus L.* cv. Vedock) yield. Pakistan. *Journal of Biological Sciences 6*(14): 1257-1268.
54. Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., & Gupta, R. (2011). Heavy metals and living systems: An overview. *Indian Journal of Pharmacology 43*(3): 246-248.
55. Sivasankari, S., Venkatesalu, V., Anantharaj, M., & Chandrasekaran, M. (2006). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of Vigna sinensis. *Bioresource Technology* 97: 1745-1751.
56. Stanisavljevic, N., Savic, J., Jovanovic, Z., Miljus-Djukic, J., Radovic, S., Vinterhalter, D., & Vinterhalter, B. (2012). Antioxidative-related enzyme activity in Alyssum markgrafii shoot cultures as affected by nickel level. *Acta Physiol Plant 34*(5): 1997–2006.
57. Sychta, K., Słomka, A., Suski, S., Fiedor, E., Gregoraszczuk, E., & Kuta, E. (2018). Suspended cells of metallicolous and nonmetallicolous Viola species tolerate, accumulate and detoxify zinc and lead. *Plant Physiology and Biochemistry* 132: 666- 674. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.10.013
58. Tu, C., Ma, L.Q., & Bondada, B. (2002). Arsenic accumulation in the hyperaccumulator chinese brake and its utilization potential for phytoremediation. *Journal Environmental Quality* 31: 1671 -1675. https://doi.org/10.2134/jeq2002.1671
59. Warwick, S.I. (2011). *Brassicaceae in Agricultur*e in: R. Schmidt and I. Bancroft (Eds). Genetics and Genomics of the Brassicaceae Springer Verlag, New York, 9: 33-66.
60. Xu, C., & Leskovar, D. (2015). Effects of A. nodosum seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition valued under drought stress. *Scientia Horticulturae* 183: 39–47.
61. Yang, W.J., Rich, P.J., Axtell, J.D., Wood, K.V., Bonham, C.C., Ejeta, G. & Rhodes, D. (2003). Genotypic variation for glycinebetaine in sorghum. *Crop Science 43*(1): 162-169.
62. Yu, D., Yan, X., Wang, A. & Wang, H. (2006). Response of submerged plant (*Vallisneria spinulosa*) clones to lead stress in the heterogenous soil. *Chemosphere* 63: 1459-1465.
63. Zarei, M., Saleh Rastin, N., & savaghebi, A.R. (2011). Efficacy of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of soils contaminated with zinc by maize. *Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources Soil and Water Sciences* 55: 151-166.